

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-095773

(43)Date of publication of application : 14.04.1998

(51)Int.Cl.

C07D213/81

A61K 31/44

A61K 31/44

C07D213/82

(21)Application number : 08-267685

(22)Date of filing : 19.09.1996

(71)Applicant : INUI KK

(72)Inventor : KOMA HIROKI

MAEDA TAKUYA

YAMAMOTO SHOJI

TSUCHITANI KOJI

TAMURA TAKUJI

KIYOTAKE YOSHIHIRO

NANBA TETSUTO

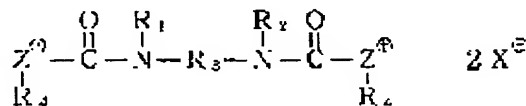
(54) BISQUATERNARY AMMONIUM SALT COMPOUND HAVING ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND ITS PRODUCTION

(57)Abstract:

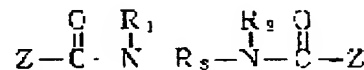
PROBLEM TO BE SOLVED: To produce the subject new compound, capable of manifesting excellent germicidal effects and a wide antimicrobial spectrum, having high safety and useful as an antimicrobial agent.

SOLUTION: This compound is represented by formula I (Z is a pyridine ring; R₁ and R₁ are each Hor a 1-6C alkyl; R₃ is a 3-18C alkylene or a 3-18C alkenylene; R₄ is a 6-18C alkyl or alkenyl; X is an anion), e.g. N, N'- hexamethylenebis(4-carbamoyl-1-decylpyridinium broide).

Furthermore, the compound is obtained by reacting an alkylenebiscarbamoylpyridine compound represented by formula II with a compound represented by the formula R₄X (e.g. hexyl iodide) in an organic solvent such as methanol within a temperature range of about 50-120° C for about 2-48hr.



I



II

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

25.07.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

NO. 10095773 COPY

THIS PAGE BLANK (USPTO)

[Date of requesting appeal against examiner's decision
of rejection]

* [Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- (19) 【発行国】 日本国特許庁 (J P)
- (12) 【公報種別】 公開特許公報 (A)
- (11) 【公開番号】 特開平 1 0 - 9 5 7 7 3
- (43) 【公開日】 平成 1 0 年 (1 9 9 8) 4 月 1 4 日
- (54) 【発明の名称】 抗菌活性を有するビス第四アンモニウム塩化合物及びその製造方法
- (51) 【国際特許分類第 6 版】
 - C07D213/81
 - A61K 31/44 ADB
 - ADZ
 - C07D213/82
- 【 F I 】
 - C07D213/81
 - A61K 31/44 ADB
 - ADZ
 - C07D213/82
- 【審査請求】 未請求
- 【請求項の数】 5
- 【出願形態】 F D
- 【全頁数】 1 0
- (21) 【出願番号】 特願平 8 - 2 6 7 6 8 5
- (22) 【出願日】 平成 8 年 (1 9 9 6) 9 月 1 9 日
- (71) 【出願人】
 - 【識別番号】 0 0 0 1 0 2 0 1 6
 - 【氏名又は名称】 イヌイ株式会社
 - 【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町 2 丁目 2 番 5 号
- (72) 【発明者】
 - 【氏名】 高麗 寛紀
 - 【住所又は居所】 徳島県徳島市川内町富吉 2 3 0 番地の 2
- (72) 【発明者】
 - 【氏名】 前田 拓也
 - 【住所又は居所】 徳島県徳島市南常三島町 2 丁目 1 番地 徳島大学工学部生物工学科内
- (72) 【発明者】
 - 【氏名】 山本 将司
 - 【住所又は居所】 徳島県徳島市南常三島町 2 丁目 1 番地 徳島大学工学部生物工学科内
- (72) 【発明者】
 - 【氏名】 槌谷 浩司
 - 【住所又は居所】 香川県高松市香西本町 1 番地イヌイ株式会社内
- (72) 【発明者】
 - 【氏名】 田村 卓二
 - 【住所又は居所】 香川県高松市香西本町 1 番地イヌイ株式会社内
- (72) 【発明者】
 - 【氏名】 清武 義弘
 - 【住所又は居所】 香川県高松市香西本町 1 番地イヌイ株式会社内
- (72) 【発明者】

【氏名】 難波 哲人

【住所又は居所】 香川県高松市香西本町1番地イヌイ株式会社内

(74) 【代理人】

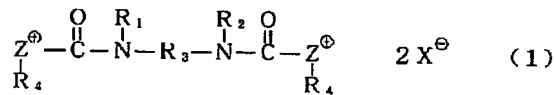
【弁理士】

【氏名又は名称】 小田島 平吉 (外1名)

(57) 【要約】

【課題】 既知の第四アンモニウム塩化合物と比較して、極めて優れた殺菌効果と広い抗菌スペクトルを示し、かつ、安全性の高い環境に優しい新規なビス第四アンモニウム塩化合物及びその製造方法を提供する。

【解決手段】 一般式【化1】

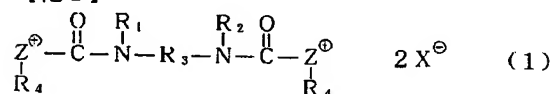


〔式中、Zはピリジン環を示し、R₁及びR₂は同一又は異なり、各々水素原子又は炭素数1～6のアルキル基を示し、R₃は炭素数3～18のアルキレン基又は炭素数3～18のアルケニレン基を示し、R₄はZの環窒素原子に結合した炭素数6～18のアルキル基又はアルケニル基を示し、Xはアニオンを示す〕で表される抗菌活性を有するビス第四アンモニウム塩化合物。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式(1)

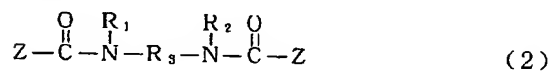
【化1】



〔式中、Zはピリジン環を示し、R₁及びR₂は同一又は異なり、各々水素原子又は炭素数1～6のアルキル基を示し、R₃は炭素数3～18のアルキレン基又は炭素数3～18のアルケニレン基を示し、R₄はZの環窒素原子に結合した炭素数6～18のアルキル又はアルケニル基を示し、Xはアニオンを示す〕で表される抗菌活性を有するビス第四アンモニウム塩化合物。

【請求項2】 一般式(2)

【化2】



〔式中、Z、R₁、R₂及びR₃は請求項1に記載の意味を有する〕で表されるアルキレンビスカルバモイルピリジン化合物を一般式(3)

$$\text{R}_4\text{X} \quad (3)$$
〔式中、R₄及びXは請求項1に記載の意味を有する〕

で表される化合物と反応させることを特徴とする請求項1に記載の一般式(1)で表されるビス第四アンモニウム塩化合物の製造方法。

【請求項3】 下記式(4)



〔式中、Zは請求項1に記載の意味を有し、R₅はアルキル基、アラルキル基又はアリール基を示す〕で表されるピリジンカルボン酸エステルを下記式(5)

【化3】



〔式中、R₁、R₂及びR₃は請求項1に記載の意味を有する〕で表されるアルキレンジアミン又はアルケニレンジアミンと塩基触媒の存在下に縮合させることを特徴とする請求項2に記載の一般式(2)で表わされるアルキレンビスカルバモイル化合物の製造方法。

【請求項4】 下記式(6)

【化4】



【式中、Z及びR₄は請求項1に記載の意味を有し、R₆はアルキル基、アラルキル基又はアリール基を示す】で表わされる化合物を下記式(5)

【化5】



【式中、R₁、R₂及びR₃は請求項1に記載の意味を有する】で表わされるアルキレンジアミン又はアルケニレンジアミンと反応させることを特徴とする請求項1に記載の一般式(1)で表わされるビス第四アンモニウム塩化合物の製造方法。

【請求項5】 請求項1に記載の一般式(1)で表わされるビス第四アンモニウム塩化合物を有効成分として含有することを特徴とする抗菌剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は抗菌活性を有するビス第四アンモニウム塩化合物並びにその製造方法及び抗菌剤としての用途に関する。

【0002】

【従来の技術】 細菌、真菌等に対して抗菌活性を発揮するビス第四アンモニウム塩化合物は古くから知られており、現在も広く一般に用いられている。しかしながら、このような化合物は、通常、抗菌活性に優れていると同時に生分解生成物の残留毒性も高いため、実際の使用に際しては安全性を考慮し、その応用範囲には制限がある。

【0003】 そのため、従来より抗菌活性に極めて優れ、かつ、生分解後は残留毒性が低く、地球環境に優しいビス第四アンモニウム塩化合物の開発が強く望まれている。

【0004】

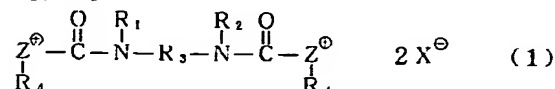
【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、既知の第四アンモニウム塩化合物に比べて、極めて優れた殺菌効果と広い抗菌スペクトルを示し、かつ、安全性の高い新規なビス第四アンモニウム塩化合物及びその製造法を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明は一般式(1)

【0006】

【化6】



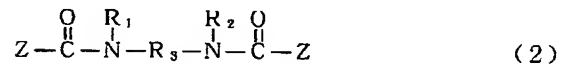
【0007】 【式中、Zはピリジン環を示し、R₁及びR₂は同一又は異なり、各々水素原子又は炭素数1～6のアルキル基を示し、R₃は炭素数3～18のアルキレン基又は炭素数3～18のアルケニレン基を示し、R₄はZの環窒素原子に結合した炭素数6～18のアルキル基又はアルケニル基を示し、Xはアニオンを示す】で表わされる抗菌活性を有するビス第四アンモニウム塩化合物を提供するものである。

【0008】 上記、一般式(1)において、R₃によって示されるアルキレン基及びアルケニレン基としては、炭素数3～18の直鎖状もしくは分枝鎖状のものが用いられるが、殺菌力の観点から炭素数4～12のものが好ましい。また、R₄によって示されるアルキル基又はアルケニル基としては、炭素数6～18の直鎖状もしくは分枝鎖状のものが用いられるが、殺菌力の観点から炭素数8～14のものが好適である。なお、式(1)中の2つのR₄は、天然油脂由来の炭素数が互いに異なるアルキル基又はアルケニル基であってもよい。さらに、Xによって示されるアニオンは、特に限定されるものではなく、例えば、I⁻、Br⁻、Cl⁻、NO₃⁻等の無機アニオン；CH₃COO⁻等の有機酸アニオン等が挙げられる。

【0009】 本発明の上記式(1)の化合物は、例えば、一般式(2)

【0010】

【化7】



【0011】 【式中、Z、R₁、R₂及びR₃は前記の意味を有する】で表されるアルキレンビスカルバモイルピリジン化合物を一般式(3)

R₄X (3)

【式中、R₄及びXは前記の意味を有する】で表される化合物と反応させることにより製造することができる。

【0012】 上記反応は、通常、有機溶媒中、例えば、メタノール、エタノール、イソプロパノール等のアルコール類や、N、N-ジメチルホルムアミド、N-メチルホルムアミド、ニトロメタン、ニトロエタン、アセトニトリル、メチルセロセルブ、エチルセロソルブ等の中で、約50～約120℃の温度で行うことができる。反応時間は通常2～48時間程度とすることができる。

【0013】 或いは上記反応は、上記の如き溶媒の存在下に、オートクレーブ中で加圧下、好ましくは約10～100MPa(メガパスカル)において約50～約100

0℃の温度で行うこともできる。この時の反応時間は通常約10～120時間程度とすることができる。

【0014】式(2)の化合物と式(3)の化合物との反応割合は厳密に制限されるものではないが、通常、式(2)の化合物1モルに対して式(3)の化合物を2～6モル、特に2.1～3の割合で使用するのが好適である。

【0015】上記反応により生成する式(1)の化合物は、通常、分離精製手段、例えば、再結晶操作等により容易に精製することができる。

【0016】上記反応において出発物質として使用される式(2)の化合物は、一部は既知のものも含まれており(特開昭55-81861号公報、特開平3-81222号公報参照)、例えば、ピリジンカルボン酸クロライド類と対応するアルキレンジアミン誘導体との反応により製造することができる。

【0017】式(2)の化合物は、また、本発明者らが開発した方法、すなわち、下記式(4)



[式中、Zは前記の意味を有し、R₅はアルキル基、アラルキル基又はアリール基を示す]で表されるピリジンカルボン酸エステルを下記式(5)

【0018】

【化8】



【0019】[式中、R₁、R₂及びR₃は前記の意味を有する]で表されるアルキレンジアミン又はアルケニレンジアミン、好ましくはα、ω-ジアミノアルカン類と縮合させる方法によっても製造することができる。

【0020】式(4)の化合物と式(5)の化合物との縮合反応は、通常、塩基触媒の存在下に、適当な有機溶媒中で、室温～約110℃の温度において実施することができる。式(4)の化合物に対する式(5)の化合物の使用割合は特に制限されないが、通常、式(5)の化合物1モルに対して式(4)の化合物を2～4モル、特に2.1～2.5モルの割合で用いるのが好適である。

【0021】触媒として使用する塩基としては、特にアルカリ金属又はアルカリ土類金属の化合物が有効であり、例えばアルカリ金属又はアルカリ土類金属の水酸化物、炭酸塩、重炭酸塩、アルコラート、水素化物等が挙げられるが、工業的には安価に市場より入手しうるナトリウムメチラートやナトリウムエチラート等のアルコラート

が好適である。塩基の使用量は特に制限されるものではなく触媒量で十分であり、通常、式(4)のエステル1モルに対し0.03～0.3モルの割合で用いるのが好適である。

【0022】上記反応により生成する式(2)の化合物は、必要により、通常、分離精製手段、例えば、再結晶操作等により容易に精製することができる。

【0023】上記反応において出発物質として用いられる式(4)のピリジンカルボン酸エステルとしては、例えばイソニコチン酸メチル、イソニコチン酸エチルエステル、ニコチン酸メチル、ニコチン酸エチルエステル、ピコリン酸メチル、ピコリン酸エチル等が挙げられ、また、式(6)のα、ω-ジアミノアルカン酸としては、例えば、トリメチレンジアミン、テトラメチレンジアミン、ペンタメチレンジアミン、ヘキサメチレンジアミン、オクタメチレンジアミン、デカメチレンジアミン、ドデカメチレンジアミン等を使用することができる。

【0024】一方、式(2)の化合物と反応せしめられる式(3)の化合物としてはハロゲン化アルキル類が好適であり、その具体例としては、沃化ヘキサン、沃化オクタン、沃化デカン、沃化ドデカン、沃化テトラデカン、沃化ヘキサデカン、沃化オクタデカン、臭化ヘキサン、臭化オクタン、臭化デカン、臭化ドデカン、臭化テトラデカン、臭化ヘキサデカン、臭化オクタデカン、塩化ヘキサン、塩化オクタン、塩化デカン、塩化ドデカン、塩化テトラデカン、塩化ヘキサデカン、塩化オクタデカン等が挙げられる。

【0025】また、天然油脂に由来する炭素数の異なるハロゲン化アルキル混合物も式(3)の化合物として用いることができる。

【0026】本発明の式(1)の化合物は、また、一般式(6)

【0027】

【化9】



【0028】[式中、Z及びR₄は前記の意味を有し、R₆はアルキル基、アラルキル基又はアリール基を示す]で表される化合物と前記式(5)で表されるアルキレンジアミン又はアルケニレンジアミンとの加熱反応により製造することもできる。

【0029】以上に述べた方法で製造される式(1)の化合物におけるアニオン(X)は、必要に応じて、一般的な処理方法で所望の他のアニオンと交換することがで

きる。アニオンは、特に限定されるものではなく、ヨウ素、臭素、塩素、フッ素、ヨウ素酸、臭素酸、塩素酸、過ヨウ素酸、過塩素酸、硫酸、塩酸、硝酸、リン酸等の無機酸のアニオン；蟻酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、イソ酪酸、吉草酸、イソ吉草酸、ピバル酸、オクタン酸、オクチル酸、デカン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、蔞酸、マロン酸、コハク酸、グルタル酸、ピメリン酸、スベリン酸、アゼライン酸、セバシン酸、アクリル酸、メタクリル酸、クロトン酸、イソクロトン酸、ソルビン酸、オレイン酸、エライジン酸、マレイン酸、シトラコン酸、メサコン酸；乳酸、リンゴ酸、クエン酸、グリコン酸等のヒドロキシ酸類；ピルビン酸等のオキソ酸類；安息香酸類、フタル酸類、ナフタレンカルボン酸等の炭素環式カルボン酸類；フランカルボン酸、ピリジンカルボン酸等の複素環式カルボン酸類；アミノ酸類；メタン（アルキル）スルホン酸、メチルベンゼンスルホン酸等の有機スルホン酸類；エリソルビン酸、アスコルビン酸、デヒドロ酢酸等の有機酸のアニオン、さらにアルコラート及びフェノラート類、水酸基等のアニオンを挙げることができる。

【0030】本発明の式（1）の化合物は、後記の試験例1～3に示すとおり、種々の細菌、真菌に対して広い抗菌スペクトルを有しており、しかも、従来の市販の第四アンモニウム塩等に比べて、1/10～1/100の最小殺菌濃度という優れた抗菌活性を示す。特に、現在一般に広く使用されている塩化ベンザルコニウムと比較して約30倍という高い抗菌活性を有しており、しかも急性経口毒性値が極めて低く（LD₅₀≧2000mg/kg：マウス）、強力かつ安全な抗菌剤として極めて有用である。

【0031】しかも、本発明の式（1）の化合物の生分解生成物は、最小殺菌濃度が1000分の1に低下するため、本発明の化合物は環境に対して優しい抗菌剤といえることができる。

【0032】本発明の化合物は、特に腐敗菌及び変敗菌に対する抗菌力が強く、従って、例えば、防菌防臭加工繊維製品、皮革製品、建材、木材、塗料、接着剤、プラスチック、フィルム、紙、パルプ、金属加工油、食品、医薬品、化粧品、文房具、畜産分野等における抗菌剤として幅広くその応用が期待される。

【0033】

【実施例】以下、実施例及び試験例により本発明をさらに具体的に説明する。

【0034】実施例1：中間体4BP6の合成副生する

エタノールを留去できる装置を備えた500ml反応缶に53.3gのイソニコチン酸エチル、20.0gのヘキサメチレンジアミン、300mlのトルエン及び4.0gのナトリウムメチラート（28%メタノール溶液）を仕込み、攪拌する。浴温を90℃に保つとエタノールの留出にともない次第に白色の結晶が析出する。エタノールの留出停止後、さらに約1時間熟成する。冷却後、析出物を濾取し、水で十分洗浄し、減圧乾燥、白色のN,N'-ヘキサメチレンビス（イソニコチン酸アミド）

（以下、4BP6という）が定量的に得られた。融点182.8～183.1℃。

【0035】

元素分析：分子式C₁₈H₂₂N₄O₂として C H N 理論値 (%) 66.24 6.79 17.17 実測値 (%) 66.34 6.83 17.16 実施例2：最終化合物4BP6-10の合成32.6g（0.1mol）の4BP6をN,N-ジメチルホルムアミド35mlに溶解し、48.7g（0.22mol）の臭化デカンを投入し、約110～120℃で7時間加熱した。反応物をアセトン500mlに投入し、析出した結晶を濾取後、メタノール／アセトン／酢酸エチルエステルの3種類の溶剤を組み合わせ、繰り返し再結晶を行い、減圧乾燥、融点128～130℃の微黄色粉末のN,N'-ヘキサメチレンビス（4-カルバモイル-1-デシルピリジニウム ブロマイド）（以下、4BP6-10という）を得た。収率85.7%。

【0036】¹H-NMR (CDCl₃) : 4BP-6, 10 (δ ppm)

0.85 (6H, t, J=6.5Hz)、1.28 (28H, s)、1.37 (4H, br s)、1.6 (4H, m)、1.9 (4H, m)、3.3 (4H, m)、4.65 (4H, t, J=7.3Hz)、8.45 (4H, d, J=6.8Hz)、9.27 (6H, d, J=6.8Hz)

元素分析：分子式C₃₈H₆₄Br₂N₄O₂として C H N 理論値 (%) 59.37 8.39 7.29 実測値 (%) 59.24 8.33 7.37 ハロゲン分析（酸素フラスコ燃焼法）

Br 理論値 (%) 20.79 実測値 (%) 20.92

実施例3：中間体3BP6の合成副生するメタノールを留去できる装置を備えた5リットルの4口フラスコに、370gのニコチン酸メチル、150gのヘキサメチレンジアミン、1900gのトルエン及び35gのナトリウムメチラート（28%メタノール溶液）を仕込み、攪拌する。浴温を80℃に保つとメタノール及びトルエン

の共沸物の留出にともない次第に白色の結晶が析出する。メタノールの留出停止後、さらに約1時間熟成する。冷却後、析出物を濾取し、トルエン400g、ついで水で十分洗浄し、減圧乾燥により、白色のN,N'-ヘキサメチレンビス(ニコチン酸アミド)(以下、3BP6という)が定量的に得られた。融点164.4~165.2℃。HPLC: 99.7% 元素分析: 分子式 $C_{18}H_{22}N_4O_2$ としてCHN理論値(%) 66.24 6.79 17.17 実測値(%) 66.37 6.83 17.13 実施例4: 最終化合物3BP6-8の合成実施例2と同様にして、3BP6を沃化オクタンによりビス第4級塩化し、以下同様に精製し、融点96~97℃の黄色粉末のN,N'-ヘキサメチレンビス(3-カルバモイル-1-オクチルピリジニウム アイオダイド)(以下、3BP6-8という)を得た。収率81.7%。HPLC: 99.2%。

【0037】 1H -NMR ($CDCl_3$): 3BP6-8 (δ ppm)

0.85 (6H, t, $J=6.5$ Hz)、1.27 (20H, s)、1.37 (4H, br s)、1.6 (4H, m)、1.9 (4H, m)、3.3 (4H, m)、4.65 (4H, t, $J=7.2$ Hz)、8.45 (4H, d, $J=6.8$ Hz)、9.27 (6H, d, $J=6.8$ Hz)

元素分析: 分子式 $C_{34}H_{56}I_2N_4O_2$ としてCHN理論値(%) 50.63 7.00 6.95 実測値(%) 50.56 7.02 7.04 ハロゲン分析(酸素フラスコ燃焼法)

I 理論値(%) 31.46 実測値(%) 31.28 実施例5: 最終化合物3BP6-10の合成実施例2と同様にして、3BP6を臭化デカンによりビス第4級塩化し、以下同様に精製し、融点95~96℃の白色粉末のN,N'-ヘキサメチレンビス(3-カルバモイル-1-デシルピリジニウム ブロマイド)(以下、3BP6-10という)を得た。収率83.2%。HPLC: 99.3%。

【0038】 1H -NMR ($CDCl_3$): 3BP6-10 (δ ppm)

0.86 (6H, t, $J=6.8$ Hz)、1.23 (28H, s)、1.36 (4H, br s)、1.5 (4H, m)、1.9 (4H, m)、3.5 (4H, m)、4.97 (4H, t, $J=7.3$ Hz)、8.14 (2H, m)、9.04 (2H, t, $J=6.7$ Hz)、9.19 (2H, d, $J=7.8$ Hz)、9.55 (2H, d, $J=5.9$ Hz)、10.00 (2H, s)

元素分析: 分子式 $C_{38}H_{64}Br_2N_4O_2$ としてCHN理論値(%) 59.37 8.39 7.29 実測値

(%) 59.17 8.52 7.11 ハロゲン分析(酸素フラスコ燃焼法)

Br 理論値(%) 20.79 実測値(%) 20.92

実施例6: 最終化合物3BP6-12の合成実施例2と同様にして、3BP6を沃化ドデカンによりビス第4級塩化し、以下同様に精製し、融点107~108℃の黄色粉末のN,N'-ヘキサメチレンビス(4-カルバモイル-1-ドデシルピリジニウム アイオダイド)(以下、3BP6-12という)を得た。収率93.6%。HPLC: 99.5%。

【0039】 1H -NMR ($CDCl_3$): 3BP6-12 (δ ppm)

0.87 (6H, t, $J=6.7$ Hz)、1.23 (36H, s)、1.35 (4H, br s)、1.5 (4H, m)、1.9 (4H, m)、3.5 (4H, m)、4.97 (4H, t, $J=7.3$ Hz)、8.12 (2H, m)、9.03 (2H, t, $J=6.7$ Hz)、9.18 (2H, d, $J=7.7$ Hz)、9.57 (2H, d, $J=6.0$ Hz)、9.98 (2H, s)

元素分析: 分子式 $C_{42}H_{72}Br_2N_4O_2$ としてCHN理論値(%) 54.90 7.90 6.10 実測値(%) 54.77 7.76 6.25 ハロゲン分析(酸素フラスコ燃焼法)

I 理論値(%) 27.62 実測値(%) 27.84

実施例7: 最終化合物3BP6-14の合成実施例3で得られた4.0g (12.2 mmol)の3BP6及び6.9g (25.0 mmol)の沃化テトラデカンをエチルアルコール40mlに溶解し、80℃で、800気圧の加圧下で48時間反応させた。反応混合物を室温まで冷却し、生じた白色沈殿物を濾取、エチルアルコール/アセトン/酢酸エチルエステルの3種類の溶剤を組み合わせ、繰り返し再結晶を行い、減圧乾燥、融点110~112℃の黄色粉末のN,N'-ヘキサメチレンビス(3-カルバモイル-1-テトラデシルピリジニウム アイオダイド)(以下、3BP6-14という)を得た。収率87.6%。HPLC: 99.2%。

【0040】 1H -NMR ($CDCl_3$): 3BP6-14 (δ ppm)

0.87 (6H, t, $J=6.6$ Hz)、1.23 (44H, s)、1.37 (4H, br s)、1.6 (4H, m)、1.9 (4H, m)、3.5 (4H, m)、4.95 (4H, t, $J=6.6$ Hz)、8.11 (2H, m)、9.07 (2H, t, $J=6.7$ Hz)、9.18 (2H, d, $J=7.8$ Hz)、9.56 (2H, d, $J=6.1$ Hz)、9.9

7 (2H, s)

元素分析：分子式 $C_{46}H_{80}I_2N_4O_2$ として C H N 理論値 (%) 56.67 8.27 5.75 実測値 (%)

56.48 8.08 5.70 ハロゲン分析 (酸素フラスコ燃焼法)

I 理論値 (%) 26.03 実測値 (%) 26.17 実

施例8：最終化合物3BP6-16の合成実施例7と同様にして、3BP6を沃化ヘキサデカンによりビス第4級塩化し、以下同様に精製し、融点115～117℃の黄色粉末のN, N'-ヘキサメチレンビス (3-カルバモイル-1-ヘキサデシルピリジニウム アイオダイド)

(以下、3BP6-16という)を得た。収率89.0%。

HPLC: 99.7%。

【0041】¹H-NMR (CDCl₃) : 3BP6-16 (δ ppm)

0.87 (6H, t, J=6.6 Hz)、1.23 (52H, s)、1.37 (4H, br s)、1.6 (4H, m)、1.9 (4H, m)、3.5 (4H, m)、4.96 (4H, t, J=7.2 Hz)、8.14 (2H, m)、9.07 (2H, t, J=6.7 Hz)、9.19 (2H, d, J=7.7 Hz)、9.57 (2H, d, J=6.1 Hz)、9.99 (2H, s)

元素分析：分子式 $C_{50}H_{88}I_2N_4O_2$ として C H N 理論値 (%) 58.24 8.60 5.43 実測値 (%)

58.01 8.34 5.46 ハロゲン分析 (酸素フラスコ燃焼法)

I 理論値 (%) 24.61 実測値 (%) 24.73 実

施例9：最終化合物3BP6-18の合成実施例7と同様にして、3BP6を臭化オクタデカンによりビス第4級塩化し、以下同様に精製し、融点118～120℃の黄色粉末のN, N'-ヘキサメチレンビス (3-カルバモイル-1-オクタデシルピリジニウム アイオダイド)

(以下、3BP6-18という)を得た。収率87.2%。

HPLC: 99.6%。

【0042】¹H-NMR (CDCl₃) : 3BP6-18 (δ ppm)

0.87 (6H, t, J=6.5 Hz)、1.28 (60H, s)、1.37 (4H, br s)、1.6 (4H, m)、1.9 (4H, m)、3.5 (4H, m)、4.97 (4H, t, J=7.3 Hz)、8.13 (2H, m)、9.05 (2H, t, J=7.6 Hz)、9.18 (2H, d, J=7.6 Hz)、9.58 (2H, d, J=5.8 Hz)、10.00 (2H, s)

元素分析：分子式 $C_{54}H_{96}I_2N_4O_2$ として C H N 理

論値 (%) 59.66 8.90 5.15 実測値 (%)

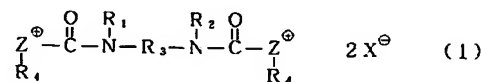
59.56 8.77 5.34 ハロゲン分析 (酸素フラスコ燃焼法)

I 理論値 (%) 23.34 実測値 (%) 23.47 以上の実施例で製造された式 (1) の化合物をまとめて下記表1に示す。

【0043】

【表1】

表 1



化合物	R ₁ , R ₂	R ₃	R ₄	X
4BP6-10	H	-(CH ₂) ₆ -	-C ₁₀ H ₂₁	Br
3BP6-8	H	-(CH ₂) ₆ -	-C ₈ H ₁₇	I
3BP6-10	H	-(CH ₂) ₆ -	-C ₁₀ H ₂₁	Br
3BP6-12	H	-(CH ₂) ₆ -	-C ₁₂ H ₂₅	I
3BP6-14	H	-(CH ₂) ₆ -	-C ₁₄ H ₂₉	I
3BP6-16	H	-(CH ₂) ₆ -	-C ₁₆ H ₃₃	I
3BP6-18	H	-(CH ₂) ₆ -	-C ₁₈ H ₃₇	I

【0044】試験例1：真菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) の測定エタノールに薬剤 (表1) をそれぞれ、400 μg/ml となるように溶解した。この薬剤溶液を無菌蒸留水で2倍の段階希釈を10回繰り返し、希釈系列を調製した。

【0045】一方、PDA培地で10～14日間培養した供試菌を10⁶ cells/ml となるように湿潤剤添加殺菌水で希釈し胞子液を調製した。希釈薬剤溶液1 ml と胞子液1 ml を混合し、インキュベーター中で27℃/一週間培養後、増殖の有無を濁度で判定し、濁度を生じていない所をMICとした。結果を下記表2に示す。

【0046】

【表2】

表2: 真菌類に対する4BP6-10, 3BP6-n, 8IT及び塩化ベンザルコニウムの最小発育阻止濃度 (MIC) の測定結果

供試菌: 真菌類	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)									
	4BP6-10	3BP6-8	3BP6-10	3BP6-12	3BP6-14	3BP6-16	3BP6-18	8IT	塩化ベンザルコニウム	
<i>Aspergillus niger</i> TSY 0013	25	12.5	6.3	25	50	50	50	50	25	
<i>Aspergillus nidulans</i> FERM S-9	5.1	12.5	6.3	25	25	50	25	25	12.5	
<i>Aspergillus terre</i> IFO 6346	<1.4	12.5	3.1	12.5	50	50	50	50	6.3	
<i>Chaetomium globosum</i> IFO 6377	3.1	12.5	3.1	6.3	12.5	25	25	25	12.5	
<i>Chaetomium catenulatum</i> FERM S-8	3.1	6.3	3.1	12.5	12.5	25	12.5	6.3	12.5	
<i>Chaetomium nigrum</i> IFO 6335	3.1	3.1	<1.6	3.1	12.5	50	25	25	6.3	
<i>Penicillium funiculosum</i> IFO 6354	<1.6	3.1	<1.6	3.1	25	25	25	12.5	<1.6	
<i>Rhizopus nigricans</i> SH2	25	25	15	25	50	50	50	50	50	
<i>Trichoderma reesei</i> IFO 30408	6.3	12.5	12.5	12.5	12.5	25	25	25	25	

塩化ベンザルコニウム(市販品)、8IT: 塩化ベンズイソチアゾリル-3-オン

塩化ベンザルコニウム(市販品)、8IT: 1,2-ビス(4-メチルピリジニル)エタン

表3: 細菌類に対する3BP6-12の抗菌スペクトル

供試菌: 細菌類	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
	実施例	実施例	比較例
	3BP6-12	4BP6-12	P-12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27583	10.5	10.0	256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	13.1	10.0	164
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3080	6.7	10.0	205
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	1.7	2.6	21
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	5.1	2.6	51
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	2.1	8.0	100
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	0.8	1.1	33
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849	10.5	25	500
<i>Escherichia coli</i> K12 OUT 8401	3.3	3.3	26
<i>Escherichia coli</i> K12 W3110	2.1	2.6	64
<i>Bacillus subtilis</i> IFO 3134	0.8	1.1	8.4
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10.5	2.1	16.4
<i>Bacillus cereus</i> IFO 3001	3.3	4.0	12.8
<i>Bacillus megaterium</i> IFO 3003	2.6	4.0	16.4
<i>Micrococcus luteus</i> IFO 12708	1.3	2.1	16.0
<i>Staphylococcus aureus</i> JCI(MRSA)	2.0	1.3	50.0

P-12: 1-ドデシルピリジニウム アイオダイド

【0050】

【発明の効果】本発明の抗菌活性を有するビス第四アンモニウム塩化合物は、既知の第四アンモニウム塩化合物に比べて、極めて優れた殺菌効果と広い抗菌スペクトルを示し、かつ、安全性も高く、抗菌剤として有用である。

【0047】試験例2: 細胞に対する最小発育阻止濃度 (MIC) の測定ニュートリエントブロス (NB培地) に薬剤 (3BP6-12) を $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ となるように溶解した。この薬剤溶液をフレッシュNB培地で段階希釈を繰り返し、希釈系列を調整した。

【0048】一方、NB培地で24時間培養した供試菌を $10^6 \text{ cells}/\text{ml}$ となるようにNB培地で希釈し接種菌液を調製した。希釈薬剤溶液1mlと接種菌液1mlを混合し、インキュベーター中で48時間培養後、増殖の有無を濁度で判定し、濁りが生じていない最小薬剤濃度をMICとした。結果を下記表3に示す。

【0049】

【表3】

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)